

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 855 146**

51 Int. Cl.:

A61K 38/28 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.2010 E 18165437 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2020 EP 3417871**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende un agonista de GLP-1, una insulina y metionina**

30 Prioridad:

13.11.2009 DE 102009052831
18.05.2010 DE 102010020902

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.09.2021

73 Titular/es:

SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH
(100.0%)
Brüningstraße 50
65929 Frankfurt, DE

72 Inventor/es:

HAGENDORF, ANNIKA;
HAUCK, GERRIT;
MÜLLER, WERNER;
SCHOETTLE, ISABELL;
SIEFKE-HENZLER, VERENA y
TERTSCH, KATRIN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 855 146 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica que comprende un agonista de GLP-1, una insulina y metionina

Objeto de la presente solicitud es una composición líquida conforme a la reivindicación 1, que comprende un agonista de GLP-1 y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo, una insulina y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma y eventualmente al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable, en donde la composición se caracteriza porque que contiene metionina, una composición para uso según la reivindicación 8 o 9, así como un procedimiento para la preparación de una composición de acuerdo con la invención según la reivindicación 16.

Otro objeto es la composición de acuerdo con la invención para el tratamiento de diabetes mellitus. Todavía otro objeto es el uso de una composición de acuerdo con la invención para preparar un medicamento para el tratamiento de diabetes mellitus. Se describe, además, un procedimiento para la preparación de una composición, que comprende formular un agonista de GLP-1 y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo con una insulina y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, metionina y, eventualmente, al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

Composiciones habituales de insulina y compuestos de GLP-1 contienen un isotonzante, un tampón para ajustar el valor de pH y una sustancia conservante. Otro componente frecuentemente utilizado de composiciones de insulina es zinc que forma un complejo con insulina. Con ello se puede alcanzar un efecto retardado de la insulina.

El documento WO 2004/035623 (Zealand Pharmaceuticals) da a conocer una composición líquida que comprende una exendina estabilizada, histidina 50 mM, sacarosa 100 a 200 mM, manitol o cualquier otro azúcar aceptable, metionina 20 mM, asparagina-glutamina o Asp 20 mM con un pH de 5,3. La estabilización es causada por determinadas modificaciones de los eslabones de aminoácidos de exendina-4(1-39), p. ej., en las posiciones Gln13, Met14, Trp25 o Asn28. Esta composición no contiene insulina.

El documento WO 2005/046716 (Novo Nordisk) da a conocer composiciones líquidas que contienen liraglutida e insulina aspart, un tampón pH 7,7, poloxámero 188 como sustancia tensioactiva, fenol, propilenglicol y, eventualmente, zinc. Sin poloxámero 188, las composiciones eran inestables. Mediante polisorbato 20 se pudo alcanzar una estabilización.

El documento WO 2006/029634 (Novo Nordisk) se refiere a composiciones farmacéuticas líquidas que contiene un péptido insulínico (agonista de GLP-1), un péptido de insulina y un ligando para His^{B10} (ligando de His en la posición 10 de la cadena B de insulina). La composición puede contener polisorbato-20 o poloxámero 188 en calidad de tensioactivo. Composiciones específicas dadas a conocer en este documento contienen insulina humana o B28-Asp-insulina (insulina aspart) humana, liraglutida (agonista de GLP-1), glicerol como isotonzante, acetato de zinc, pH 7,4 ó 7,9. Dependiendo de la cantidad de la insulina empleada o de liraglutida, estas composiciones eran inestables en parte ya después de 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente. La estabilidad de estas composiciones se logró mediante la adición de un ligando para His^{B10}. Otras formulaciones consistían en liraglutida, insulina aspart o detemir, propilenglicol, fenol y tampón fosfato pH 7,7. Estas composiciones eran inestables prácticamente de inmediato. La adición de poloxámero-188 o polisorbato-20 y de un ligando para His^{B10} resultó en una estabilización.

El documento WO 2006/051103 (Novo Nordisk) da a conocer composiciones líquidas que contienen detemir (una insulina basal), liraglutida (compuesto GLP-1) y, en calidad de sustancia tensioactiva, poloxámero 188 o polisorbato 20. Otros componentes son fenol, NaCl, propilenglicol, acetato de zinc y tampón fosfato de sodio o glicilglicina (pH 7,7). m-cresol está contenido en algunas de estas composiciones. Mediante la adición de poloxámero 188 o polisorbato 20 se pudieron estabilizar las composiciones.

El documento WO 2008/124522 (Biodel) se refiere a composiciones que contienen una insulina, un quelante de zinc (p. ej. EDTA o EGTA) y un análogo de GLP-1.

Aproximadamente 120 millones de personas padecen diabetes mellitus en todo el mundo. Entre ellos se encuentran aproximadamente 12 millones de diabéticos de tipo I, para los cuales la sustitución de la carente secreción de insulina endocrina es la única terapia posible en la actualidad. Los afectados dependen de por vida, por norma general varias veces al día, de inyecciones de insulina. A diferencia de la diabetes de tipo I, en el caso de la diabetes tipo II no existe básicamente una falta de insulina, pero en muchos casos, especialmente en etapas avanzadas, el tratamiento con insulina, eventualmente en combinación con un antidiabético oral es considerado la forma más favorable de terapia.

En sujetos sanos, la liberación de insulina por parte del páncreas está ligada estrictamente a la concentración de glucosa en sangre. Niveles elevados de glucosa en sangre tal como se manifiestan después de las comidas son compensados rápidamente por un aumento correspondiente en la secreción de insulina. En estado de ayuno, el nivel de insulina en plasma cae a un nivel basal, que es suficiente para asegurar un suministro continuo de glucosa a órganos y tejidos sensibles a la insulina y para mantener baja la producción de glucosa durante la noche. La sustitución de la secreción de insulina propia del cuerpo por la administración exógena, la mayoría de las veces subcutánea, de insulina no se aproxima, por norma general, a la calidad arriba descrita de la regulación fisiológica de la glucosa en sangre. A menudo se producen desviaciones de la glucosa en la sangre hacia arriba o hacia abajo que, en sus formas más graves, pueden poner la vida en peligro. Además, sin embargo, en los últimos años también niveles

incrementados de glucosa en sangre sin síntomas iniciales representan un riesgo considerable para la salud. El estudio a gran escala DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993) N. Engl. J. Med. 329, 977-986) en los EE.UU. demostró claramente que niveles crónicamente elevados de glucosa en sangre son en gran parte responsables del desarrollo de complicaciones tardías de la diabetes. Complicaciones tardías de la diabetes son lesiones microvasculares y macrovasculares que, bajo determinadas circunstancias, se manifiestan como retinopatía, nefropatía, neuropatía y conducen a la ceguera, insuficiencia renal así como a la pérdida de miembros y, además de ello, van acompañadas de un riesgo incrementado de enfermedades cardiovasculares. De esto se puede deducir que una terapia mejorada de la diabetes debe apuntar, en primer término, a mantener la glucosa en sangre lo más cerca posible del intervalo fisiológico. De acuerdo con el concepto de la terapia con insulina intensificada, esto se debe alcanzar mediante múltiples inyecciones diarias de preparados de insulina de acción rápida y lenta. Formulaciones de acción rápida se administran en las comidas para compensar el aumento postprandial de la glucosa en sangre. Insulinas basales de acción lenta deben garantizar el suministro básico de insulina durante la noche, sin dar lugar a una hipoglucemia.

La insulina es un polipéptido a base de 51 aminoácidos, que se distribuyen en 2 cadenas de aminoácidos: la cadena A de 21 aminoácidos y la cadena B de 30 aminoácidos. Las cadenas están conectadas entre sí por 2 puentes disulfuro. Los preparados de insulina se utilizan para la terapia de la diabetes desde hace muchos años. En este caso, se utilizan no sólo las insulinas de origen natural, sino recientemente también derivados y análogos de insulina.

Análogos de insulina son análogos de insulinas de origen natural, a saber, Insulina humana o insulinas animales que, por la sustitución de al menos un residuo aminoácido de origen natural con otros aminoácidos y/o la adición/eliminación de al menos un residuo aminoácido, se diferencian de la correspondiente, por lo demás idéntica, insulina de origen natural. En este caso se puede tratar también de aminoácidos que no se producen de forma natural.

Los derivados de insulina son derivados de insulina de origen natural o de un análogo de insulina, que se obtienen por modificación química. La modificación química puede consistir, p. ej., en la adición de uno o más grupos químicos específicos a uno o más aminoácidos. Por norma general, derivados de insulina y análogos de insulina tienen, en comparación con la insulina humana, un efecto algo alterado.

Análogos de insulina con una aparición acelerada de la acción se describen en los documentos EP 0 214 826, EP 0 375 437 y EP 0 678 522. El documento EP 0 214 826 se refiere, entre otros, a sustituciones de B27 y B28. El documento EP 0 678 522 describe análogos de insulina que en la posición B29 presentan diferentes aminoácidos, preferiblemente prolina, pero no ácido glutámico. El documento EP 0 375 437 comprende análogos de insulina con lisina o arginina en B28, que opcionalmente pueden estar modificados adicionalmente en B3 y/o A21.

En el documento EP 0 419 504 se dan a conocer análogos de insulina que están protegidos frente a modificaciones químicas, estando modificados asparagina en B3 y al menos otro aminoácido en las posiciones A5, A15, A18 o A21.

En el documento WO 92/00321 se describen análogos de insulina en los que al menos un aminoácido de las posiciones B1-B6 está reemplazado por lisina o arginina. Insulinas de este tipo presentan, de acuerdo con el documento WO 92/00321, un efecto prolongado. Un efecto retardado lo presentan también los análogos de insulina descritos en el documento EP-A 0 368 187.

Los preparados de insulina que se encuentran en el mercado de insulinas de origen natural para la sustitución de insulina difieren en el origen de la insulina (p. ej., insulina bovina, de cerdo, humana), así como en la composición, por lo que el perfil de acción (comienzo y la duración del efecto) puede verse influenciado. Mediante la combinación de diferentes preparados de insulina se pueden alcanzar diversos perfiles de acción y se pueden ajustar posibles niveles de azúcar en sangre fisiológicos. La tecnología de ADN recombinante permite hoy en día la producción de insulinas modificadas de este tipo. A ellas pertenecen la insulina glargina (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana, Lantus) con una duración del efecto prolongada. La insulina glargina se inyecta en forma de una disolución de carácter ácido, transparente y precipita, debido a sus propiedades de disolución en el intervalo de pH fisiológico del tejido subcutáneo, en forma de un asociado de hexámero estable. La insulina glargina se inyecta una vez al día y se distingue de otras insulinas de acción prolongada por su perfil en suero plano y la consiguiente reducción del riesgo de hipoglucemias nocturnas (Schubert-Zsilavec et al., 2:125-130(2001)).

El preparado específico de la insulina glargina, que conduce a la duración prolongada del efecto, se caracteriza por una disolución transparente que tiene un valor de pH ácido.

Las exendinas son un grupo de péptidos que pueden reducir las concentraciones de glucosa en sangre. Las exendinas presentan una cierta similitud con la secuencia de GLP-1(7-36) (53%, Goke et al. J. Biol Chem 268, 19650-55). Exendina-3 y exendina-4 estimulan un aumento en la producción de AMPc celular en células acinares del páncreas de cobayas mediante la interacción con receptores de exendina (Raufman, 1996, Reg. Peptides 61:1-18). La exendina-3 provoca, a diferencia de la exendina-4, un aumento en la liberación de amilasa en células acinares del páncreas. Las exendinas actúan como agonistas de GLP-1.

El péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) es una hormona endocrina que aumenta la respuesta de la insulina después de la ingesta oral de glucosa o grasa. GLP-1 reduce generalmente las concentraciones de glucagón, ralentiza el vaciado gástrico, estimula la biosíntesis de (pro)insulina, aumenta la sensibilidad frente a insulina y la insulina estimula

la biosíntesis de glucógeno independiente de insulina (Holst (1999), Curr. Med. Chem 6: 1005, Nauck et al. (1997) Exp Clin Endocrinol Diabetes 105: 187, López-Delgado et al. (1998) Endocrinology 139:2811). GLP-1 humano presenta 37 residuos aminoácidos (Heinrich et al., Endocrinol. 115:2176 (1984), Uttenthal et al, J Clin Endocrinol Metabol (1985) 61:472). Fragmentos activos de GLP-1 incluyen GLP-1(7-36) y GLP-1(7-37).

- 5 Se han propuesto exendina-3, exendina-4 y agonistas de exendina para el tratamiento de diabetes mellitus y la prevención de la hiperglucemia, reduciendo la motilidad gástrica y el vaciado gástrico (documentos US 5.424.286 y WO98/05351). Análogos de la exendina pueden estar caracterizados por sustituciones de aminoácidos y/o truncamiento C-terminal de la secuencia nativa de exendina-4. Análogos de exendina de este tipo se describen en los documentos WO 99/07404, WO 99/25727 y WO 99/25728.
- 10 La síntesis en fase sólida de AVE0010 se describe en el documento WO 01/04156 A1. AVE0010 tiene la secuencia: desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂. Esta sustancia se publica como SEQ ID NO: 93 en el documento WO 01/04156:

H-G-E-G-T-F-T-S-D-L-S-K-Q-M-E-E-E-A-V-R-L-F-I-E-W-L-K-N-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-K-K-K-K-K-K-NH₂ (SEQ ID NO:1)

Exendina-4 (39 AS) presenta la secuencia:

H-G-E-G-T-F-T-S-D-L-S-K-Q-M-E-E-E-A-V-R-L-F-I-E-W-L-K-N-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-NH₂ (SEQ ID NO:2)

- 15 Exendina-3 presenta secuencia (J. Bio. Chem, 267, 1992, 7402-7405):

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 3)

GLP-1 presenta la secuencia:

H-A-E-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-E-G-Q-A-A-K-E-F-I-A-W-L-V-K-G-R-NH₂ (SEQ ID NO: 4)

- 20 La misión de la presente invención consistía en aumentar la estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden un agonista de GLP-1 y una insulina. En particular, se ha de mejorar la integridad física y química. Este problema se resuelve debido a que el agonista de GLP-1 y la insulina se formularon con metionina.

Se encontró que metionina puede aumentar la estabilidad al almacenamiento de una composición que comprende un análogo de GLP-1 agonista tal como AVE0010 y de una insulina tal como la insulina glargina. Metionina no afecta a la integridad física de estas composiciones.

- 25 La estabilidad de polipéptidos farmacéuticamente activos puede verse perjudicada por diferentes mecanismos. A ellos pertenecen el pH, la temperatura, la luz y los efectos de determinados componentes.

- En relación con la presente invención, se encontró que una serie de componentes habituales de formulaciones de insulina o formulaciones de agonistas de GLP-1 es perjudicial para la integridad química y/o física y para la estabilidad al almacenamiento de formulaciones que contienen un insulina y un agonista de GLP-1. Estos son, por ejemplo, acetato, polisorbato 20, polisorbato 80, poloxámero 188, cloruro de benzalconio y lisina. Las composiciones de acuerdo con la invención están, por lo tanto, preferiblemente exentas de estos componentes.

- 30 Un objeto de la presente invención es una composición líquida según la reivindicación 1 que comprende un agonista de GLP-1 y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo, una insulina y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo, y eventualmente al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable, en donde la composición se caracteriza por que contiene metionina.
- 35

La composición de acuerdo con la invención contiene metionina, preferiblemente en una cantidad de 0,5 mg/mL a 20 mg/mL, más preferiblemente en una cantidad de 1 mg/mL a 5 mg/mL, de manera particularmente preferida en una cantidad de 3,0 mg/mL. Metionina puede emplearse en la forma D. Asimismo, metionina puede emplearse en la forma L. Asimismo pueden emplearse mezclas de la forma D y la forma L en proporciones arbitrarias.

- En particular, la composición de acuerdo con la invención está exenta de tensioactivos tales como polioles y ésteres parciales y de ácidos grasos y ésteres parciales de alcoholes polivalentes tales como del glicerol y sorbitol. Las composiciones de acuerdo con la invención están, en particular, especialmente exentas de ésteres parciales y de ácidos grasos y ésteres parciales del glicerol y sorbitol, elegidos del grupo que comprende Span®, Tween®, Myrj®, Brij®, Cremophor®. Además, la composición de acuerdo con la invención está particularmente exenta de polioles elegidos del grupo de polipropilenglicoles, polietilenglicoles, poloxámeros, Pluronic, Tetronics. En particular, la composición de acuerdo con la invención está exenta de al menos una sustancia elegida de polisorbato, polisorbato y poloxámero.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de polisorbato tal como, p. ej., polisorbato 20.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de polisorbato 80.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de poloxámero tal como, p. ej. poloxámero 188.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de cloruro de benzalconio.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de histidina.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de EDTA, en particular EDTA sódico.
- En particular, la composición de acuerdo con la invención está sustancialmente exenta, preferiblemente exenta de histidina y EDTA sódico.
- La composición de acuerdo con la invención puede contener una o más sustancias que se utilizan habitualmente para tamponar el valor del pH (sustancias tampón). Ejemplos de sustancias tampón de este tipo son acetato, citrato y fosfato. En particular, la composición de acuerdo con la invención puede contener una o más sustancias, que se utilizan habitualmente para tamponar el valor del pH en una cantidad que, por ejemplo, es suficiente como ion antagonista para el agonista de GLP-1 y/o la insulina. La composición de acuerdo con la invención puede contener una o más sustancias tampón, por ejemplo en cada caso en una cantidad de hasta 1 mg/ml, hasta 0,5 mg/ml, hasta 0,1 mg/ml, hasta 0,05 mg/ml, hasta 0,02 mg/ml o hasta 0,01 mg/ml. La composición de acuerdo con la invención puede asimismo estar sustancialmente exenta de sustancias tampón. Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención está exenta de sustancias tampón.
- La composición de acuerdo con la invención puede contener de acetato, por ejemplo en una cantidad de hasta 1 mg/ml, hasta 0,5 mg/ml, hasta 0,1 mg/ml, hasta 0,05 mg/ml, hasta 0,02 mg/ml o hasta 0,01 mg/ml. Estas cantidades son suficientes, por ejemplo, como ion antagonista para el agonista de GLP-1. Asimismo, la composición de acuerdo con la invención puede estar sustancialmente exenta de acetato. Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención está exenta de acetato.
- La composición de acuerdo con la invención puede contener citrato, por ejemplo en una cantidad de hasta 1 mg/ml, hasta 0,5 mg/ml, hasta 0,1 mg/ml, hasta 0,05 mg/ml, hasta 0,02 mg/ml o hasta 0,01 mg/ml. Estas cantidades son suficientes, por ejemplo, como ion conjugado para el agonista de GLP-1. Asimismo, la composición de acuerdo con la invención puede estar sustancialmente exenta de citrato. Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención está exenta de citrato.
- La composición de acuerdo con la invención puede contener fosfato, por ejemplo en una cantidad de hasta 1 mg/ml, hasta 0,5 mg/ml, hasta 0,1 mg/ml, hasta 0,05 mg/ml, hasta 0,02 mg/ml o hasta 0,01 mg/ml. Estas cantidades son suficientes, por ejemplo, como ion conjugado para el agonista de GLP-1. Asimismo, la composición de acuerdo con la invención puede estar sustancialmente exenta de fosfato. Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención está exenta de fosfato.
- La composición farmacéutica de la presente invención puede presentar un pH ácido o fisiológico. Un intervalo de pH ácido se encuentra preferiblemente en el intervalo de pH 1 - 6,8, pH 3,5 - 6,8 o pH 3,5 - 5. Un pH fisiológico se encuentra preferiblemente en el intervalo de pH 2,5 - 8,5, más preferiblemente de pH 4,0 - 8,5, todavía más preferiblemente de pH 6,0 a 8,5. Es especialmente preferido un valor del pH de aproximadamente 4,5. Para ajustar el valor del pH son adecuados ácidos diluidos fisiológicamente inocuos (típicamente HCl) o bien lejías (típicamente NaOH).
- La composición de acuerdo con la invención puede contener un conservante adecuado. Conservantes adecuados son, p. ej., fenol, m-cresol, alcohol bencílico y/o ésteres del ácido p-hidroxibenzoico. El preferido es m-cresol. Sin embargo, también se puede prescindir de conservantes.

La composición de acuerdo con la invención puede contener iones zinc. La concentración de los iones zinc se encuentra preferiblemente en el intervalo de 1 µg/ml a 2 mg/ml, más preferiblemente de 5 µg a 200 µg de zinc/ml, en particular como máximo en 0,06 mg/ml, de manera particularmente preferida en 0,06 mg/ml.

Además, la composición de acuerdo con la invención puede contener isotonzantes adecuados. Son adecuados, p. ej., glicerol, dextrosa, lactosa, sorbitol, manitol, glucosa, NaCl, compuestos de calcio o magnesio tales como CaCl₂, etc. Las concentraciones de glicerol, dextrosa, lactosa, sorbitol, manitol y glucosa se encuentran típicamente en el intervalo de 100 - 250 mM, NaCl en una concentración de hasta 150 mM. Se prefiere glicerol. Particularmente, se prefiere glicerol al 85% a 20,0 mg/ml.

Además, la composición de acuerdo con la invención puede contener otros aditivos, tales como, p. ej., sales, que retardan la liberación de la al menos una insulina. Preferiblemente, la composición está exenta de estos aditivos.

En particular, la composición está prevista para la administración parenteral. La composición de acuerdo con la invención es preferiblemente una composición inyectable, más preferiblemente para la inyección subcutánea. En particular, la composición de la presente invención es adecuada para la inyección una vez al día.

En particular, la formulación de acuerdo con la invención presenta, después de un almacenamiento de 1 mes, 2 meses, 4 meses o 6 meses a una temperatura de + 5°C o 25°C, una actividad de al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98% la actividad en el instante de partida.

"Actividad" puede significar en la presente solicitud la actividad de la insulina que se emplea en la formulación de acuerdo con la invención. Procedimientos para determinar la actividad de insulina son conocidos por el experto en la materia.

"Actividad" puede significar en la presente solicitud asimismo la actividad del agonista de GLP-1, que se emplea en la formulación de acuerdo con la invención. Procedimientos para determinar la actividad de un agonista de GLP-1 son conocidos por el experto en la materia.

La formulación de acuerdo con la invención presenta, en particular después de un almacenamiento de 1 mes, 2 meses, 4 meses o 6 meses, una integridad química. Integridad química significa, en particular, que, después de almacenamiento a una temperatura de + 5°C, 25°C o 40°C, la formulación contiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98% de la sustancia activa en el instante de partida en forma esencialmente químicamente inalterada.

Integridad química puede significar la integridad química del agonista de GLP-1. Agonistas de GLP-1 pueden contener un residuo metionina (p. ej. posición 14 en AVE0010). Integridad química del agonista de GLP-1 significa, en particular, que se evita la oxidación de este residuo metionina.

Integridad química puede significar, asimismo, la integridad química de la insulina.

Preferiblemente, integridad química significa la integridad de la insulina y del agonista de GLP-1.

La formulación de acuerdo con la invención presenta, en particular después de almacenamiento de 1 mes, 2 meses, 4 meses o 6 meses, una integridad física. Integridad física significa, en particular, que, después de almacenamiento a una temperatura de + 5°C, 25°C o 40°C, contiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98% de la sustancia activa en el instante de partida en forma esencialmente químicamente inalterada.

La integridad física puede significar la integridad del agonista de GLP-1. Asimismo, la integridad física puede significar la integridad de la insulina. Integridad física significa, en particular, que el agonista GLP-1 y/o la insulina no forman agregaciones tales como, p. ej. fibrillas.

Preferiblemente, integridad física significa la integridad de la insulina y del agonista de GLP-1.

El agonista de GLP-1 se selecciona preferiblemente del grupo consistente en exendina-3 y análogos y derivados de la misma, exendina-4 y análogos y derivados de la misma, y en donde el agonista de GLP-1 se elige más preferiblemente del grupo consistente en AVE0010 y exendina-4.

Exendina-3, análogos y derivados de exendina-3, exendina-4 y análogos y derivados de exendina-4 pueden encontrarse en los documentos WO 01/04156, WO 98/30231, US 5.424.286, en la solicitud EP 99 610043.4 y en el documento WO 2004/005342.

La exendina-3, exendina-4 y análogos y derivados de los mismos descritos en estos documentos se pueden sintetizar mediante los procedimientos descritos en esta memoria, llevándose a cabo eventualmente modificaciones después de finalizado el procedimiento.

Las secuencias de AVE0010 (SEQ ID NO:1), exendina-4 (SEQ ID NO:2) y exendina-3 (SEQ ID NO:3) muestran un alto grado de coincidencia. Las secuencias de AVE0010 y de exendina-4 son idénticas en las posiciones 1 -37. La secuencia 1-39 de exendina-4 es idéntica en 37 de las 39 posiciones (94%) a la secuencia de exendina-3 en las

posiciones 48-86. Con ayuda de las secuencias, el experto en la materia puede convertir sin más a otras secuencias los datos de posiciones aquí indicados, que se refieren a una determinada secuencia (p. ej. a la secuencia de AVE0010 o exendina-4).

Análogos y derivados de exendina-3 y/o exendina-4 contienen, en particular, una secuencia de aminoácidos modificada. Por ejemplo, pueden estar suprimidos aminoácidos individuales (p. ej., desPro³⁶, desPro³⁷, desAsp²⁸, desMet(O)¹⁴ en exendina-4 y las correspondientes posiciones en exendina-3). Asimismo, pueden reemplazarse posiciones individuales (p. ej., Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸, Asp²⁸ Pro³⁸ en exendina-4 y las correspondientes posiciones en exendina-3), pudiendo emplearse también aminoácidos no naturales tales como Met(O) (sulfóxido de metionina o metioninsulfona), Trp(O₂) (N-formilquinurenina) y/o IsoAsp (β-aspartato o isoaspartato). Aminoácidos no naturales pueden introducirse sin más en la secuencia en forma de correspondientes elementos constitutivos de aminoácidos.

Además, el extremo C y/o el extremo N pueden estar modificados, p. ej., mediante una secuencia adicional tal como -(Lys)-, -(Lys)₂-, -(Lys)₃-, -(Lys)₄-, -(Lys)₅-, -(Lys)₆-, -Asn-(Glu)₅-, prefiriéndose -(Lys)₄-, -(Lys)₅-, -(Lys)₆-, -Asn-(Glu)₅-. El grupo carboxilo en el extremo C está modificado como grupo amida de ácido (-NH₂). Eventualmente, la modificación en el extremo C y/o en el extremo N se lleva a cabo como etapa de procedimiento adicional después de finalizada la síntesis.

Salas farmacéuticamente tolerables se pueden preparar en una etapa adicional de procedimiento, después de la finalización de los ciclos de síntesis del procedimiento de acuerdo con la invención. La preparación de sales farmacéuticamente tolerables de los péptidos es conocida por el experto en la materia. Una sal farmacéuticamente tolerable preferida es acetato.

El agonista de GLP-1 se elige preferiblemente del grupo consistente en exendina-4, análogos y derivados de exendina-4 y sales farmacológicamente tolerables de los mismos.

Otro agonista de GLP-1 preferido es un análogo de exendina-4 elegido de un grupo consistente en:

H-desPro³⁶-exendina-4-Lys₆-NH₂,

H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₄-NH₂,

H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₅-NH₂ y sales farmacológicamente tolerables del mismo.

Otro agonista de GLP-1 preferido es un análogo de exendina-4 elegido de un grupo consistente en:

desPro³⁶[Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶[IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴,IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-2 (1-39),

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵,IsoAsp²⁸]exendina-2 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵,IsoAsp²⁸]exendina-4(1-39) y sales farmacológicamente tolerables del mismo.

Otro agonista de GLP-1 preferido es un análogo de exendina-4 elegido de un grupo tal como se describe en el párrafo anterior, en el que en los extremos C de los análogos de exendina-4 está agregado el péptido -Lys₆-NH₂.

Otro agonista de GLP-1 preferido es un análogo de exendina-4 elegido de un grupo consistente en:

H-(Lys)₆-desPro³⁶[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,

desAsp²⁸Pro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸exendina-4(1-39)-NH₂,

H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,

H-Asn-(Glu)₅desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,

desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- H-(Lys)₆-desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
H-desAsp²⁸Pro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
5 desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆-desPro³⁶[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
desMet(O)¹⁴Asp²⁸Pro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸exendina-4(1-39)-NH₂,
10 H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶Pro³⁷Pro³⁸[Met(O)¹⁴Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
15 H-(Lys)₆-desPro³⁶[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
desAsp²⁸Pro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
20 H-(Lys)₆-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶,Pro³⁷,Pro³⁸[Met(O)¹⁴,Trp(O₂)²⁵,Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂ y sales farmacológicamente tolerables del mismo.
- Asimismo, el agonista de GLP-1 puede elegirse de GLP-1 y análogos y derivados de GLP-1. Otro agonista de GLP-1 preferido se elige de un grupo consistente en Arg³⁴,Lys²⁶(N^ε(γ-glutamil(N^α-hexadecanoil)))GLP-1(7-37) [Liraglutida] y una sal farmacológicamente tolerable del mismo. Otro agonista de GLP-1 preferido es AVE0010. AVE0010 presenta la secuencia desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ (SEQ ID NO:1). Del mismo modo se prefieren sales farmacológicamente tolerables de AVE0010.
- El agonista de GLP-1, p. ej., el AVE0010, se emplea en una cantidad de 0,01 mg/ml a 0,5 mg/ml o 0,05 mg/ml a 1,5 mg/ml.
- 30 En la presente solicitud, el término "insulina" comprende no sólo las insulinas no modificadas, sino también análogos de insulina, derivados de insulina y metabolitos de insulina. Las composiciones de acuerdo con la invención comprenden uno o varios, elegidos del grupo consistente en insulinas (p. ej., insulinas no modificadas), análogos de insulina, derivados de insulina y metabolitos de insulina y combinaciones arbitrarias de los mismos.
- 35 La al menos una insulina puede elegirse independientemente del grupo consistente en insulinas bovinas, análogos, derivados y metabolitos de las mismas, insulinas de cerdo, análogos, derivados y metabolitos de las mismas e insulinas humanas, análogos, derivados y metabolitos de las mismas. Se prefiere la al menos una insulina elegida de insulinas humanas, análogos, derivados y metabolitos de las mismas.
- Además, una insulina de acuerdo con la invención puede elegirse independientemente de insulinas bovinas, insulinas de cerdo e insulinas humanas.
- 40 La al menos una insulina puede elegirse independientemente del grupo consistente en insulinas bovinas, insulinas de cerdo e insulinas humanas. Más preferiblemente, la al menos una insulina se elige independientemente de insulinas humanas. Una insulina de acuerdo con la invención puede elegirse de insulinas no modificadas, en particular de insulinas bovinas, insulinas de cerdo e insulinas humanas.

Derivados de insulina de acuerdo con la invención son derivados de una insulina que se presenta de forma natural y/o de un análogo de insulina que se obtiene por modificación química. La modificación química puede consistir, p. ej., en la adición de uno o varios grupos químicos determinados a uno o varios aminoácidos.

5 Análogos de insulina que se describen en los documentos EP 0 214 826, EP 0 375 437, EP 0 678 522, EP 0 419 504, WO 92/00321, EP-A 0 368 187 y WO2009/063072 pueden ser componente de las composiciones de acuerdo con la invención.

10 Un análogo de insulina de acuerdo con la invención preferido puede elegirse del grupo consistente en Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana (insulina glargina), Lys(B3)-Glu(B29)-insulina humana; Lys^{B28} Pro^{B29} insulina humana (insulina Lyspro), B28 Asp-insulina humana (insulina aspart), insulina humana en la que la prolina en la posición B28 fue sustituida con Asp, Lys, Leu, Val o Ala y en donde en la posición B29 Lys puede estar sustituida con Pro; AlaB26-insulina humana; Des(B28-B30)-insulina humana; Des(B27)-insulina humana o B29Lys(ε-tetradecanoil),des(B30)-insulina humana (insulina detemir), N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30)insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO-γ-Glu) des B30 insulina humana, Lys^{B29}(N^ε litocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida des B30 insulina humana y N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-amino-butanoil des(B30) insulina humana.

20 Un derivado de insulina de acuerdo con la invención preferido se puede elegir del grupo consistente en B29-N-miristoil-des(B30) insulina humana, B29-N-palmitoil-des(B30) insulina humana, B29-N-miristoil insulina humana, B29-N-pamitoil insulina humana, B28-N-miristoil Lys^{B28}Pro^{B29} insulina humana, B28-N-palmitoil Lys^{B28}Pro^{B29} insulina humana, B30-N-miristoil-Thr^{B29}Lys^{B30} insulina humana, B30-N-palmitoil-Thr^{B29}Lys^{B30} insulina humana, B29-N-(N-palmitoil-Y-glutamil)-des(B30) insulina humana, B29-N-(N-litocolil-Y-glutamil)-des(B30) insulina humana, B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil)-des(B30) insulina humana y B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil) insulina humana, N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30)insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, Lys^{B29}(N^ε-litocolil-γ-Glu) des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutamida desB30 insulina humana y N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-amino-butanoil des(B30) insulina humana.

25 Un derivado de insulina de acuerdo con la invención más preferido se elige del grupo consistente en Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana, Lys^{B28}Pro^{B29} insulina humana (insulina Lyspro), B28 Asp-insulina humana (insulina aspart), B29Lys(ε-tetradecanoil),desB30-insulina humana (insulina detemir).

30 Las composiciones de acuerdo con la invención contienen 240-3000 nmol/ml de una insulina tal como se define en esta memoria. Una concentración de 240-3000 nmol/ml corresponde, dependiendo de la insulina utilizada, a aproximadamente una concentración de 1,4-35 mg/ml o 40-500 unidades/ml.

35 Un objeto de acuerdo con la invención particularmente preferido es una composición tal como se describe en esta memoria que comprende una insulina, elegida independientemente de Lys^{B28}Pro^{B29} insulina humana (insulina Lyspro), B28 Asp-insulina humana (insulina aspart), B29Lys(ε-tetradecanoil),desB30-insulina humana (insulina detemir) e insulina glargina (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana) y que comprende AVE0010 y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma. Otro objeto particularmente preferido es una composición tal como se describe en esta memoria que comprende insulina glargina (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana) y AVE0010 (desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂) y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma. Estas composiciones particularmente preferidas presentan preferiblemente un pH ácido de 1 - 6,8, más preferiblemente pH 3,5 - 6,8, todavía más preferiblemente pH 3,5-4,5.

40 En una forma de realización particular, la formulación de acuerdo con la invención comprende los siguientes componentes:

- (a) desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
- (b) Gly(A21)-Arg(B31)-Arg (B32)-insulina humana
- (c) cloruro de zinc,
- 45 (d) m-cresol,
- (e) L-metionina,
- (f) glicerol,
- (g) ácido clorhídrico, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5,
- 50 (h) disolución de NaOH, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5, e
- (i) agua.

En particular, la formulación de acuerdo con la invención consiste en los componentes (a) a (i) mencionados. Eventualmente, se puede prescindir de m-cresol. En este sentido, la formulación de acuerdo con la invención se compone entonces de los ingredientes (a) a (c) y (e) a (i).

- 5 Otro objeto de acuerdo con la invención es una combinación de al menos dos formulaciones de acuerdo con la invención. En este caso, se proporciona una primera, una segunda composición y, eventualmente, al menos otra composición farmacéutica, cada una de las cuales contiene la insulina y el agonista de GLP-1.

- 10 Por lo tanto, un objeto de acuerdo con la invención es una combinación que comprende una primera composición farmacéutica y una segunda composición farmacéutica y, eventualmente, al menos otra composición farmacéutica, que en cada caso comprenden al menos una insulina y al menos un agonista de GLP-1 y que contienen a la insulina y/o al menos un agonista de GLP-1 en diferentes proporciones en peso, referido al peso total de la composición.

En la presente solicitud, "eventualmente al menos otra composición farmacéutica" significa que la combinación de acuerdo con la invención puede comprender, junto a la primera y la segunda composición farmacéutica, al menos otra composición farmacéutica. La combinación de acuerdo con la invención puede comprender, por lo tanto, p. ej., 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención.

- 15 Se prefieren combinaciones que contengan una primera y una segunda composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Igualmente, se prefieren combinaciones que contengan una primera, una segunda y una tercera composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

- 20 Igualmente, se prefieren combinaciones que contengan una primera, una segunda, una tercera y una cuarta composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Igualmente, se prefieren combinaciones que contengan una primera, una segunda, una tercera, una cuarta y una quinta composición farmacéutica.

- 25 Las proporciones en peso de la al menos una insulina y el al menos un agonista de GLP-1 pueden elegirse en la primera composición farmacéutica, la segunda composición farmacéutica y, eventualmente, la al menos una composición farmacéutica adicional de tal manera que las composiciones farmacéuticas contengan diferentes relaciones de insulina al agonista de GLP-1 referidas a la proporción en peso.

- 30 En este caso, la primera composición puede contener la proporción más pequeña y la segunda composición puede contener la siguiente relación más grande. En la medida en que esté presente al menos otra composición, ésta puede contener la siguiente proporción más grande. En la medida en que esté presente, además, otra composición, ésta puede contener, de nuevo, la siguiente proporción más grande. Las composiciones pueden contener, por lo tanto, relaciones crecientes de la primera a la segunda y, eventualmente, otras composiciones de insulina al agonista de GLP-1, referido a la proporción en peso.

- 35 La proporción en peso de una de las dos sustancias activas, es decir, de la al menos una insulina o el al menos un agonista de GLP, en la primera composición farmacéutica, la segunda composición farmacéutica y, eventualmente, la al menos otra composición farmacéutica, se elige preferiblemente en cada caso de tal manera que, mediante la administración de un determinado volumen de la primera, la segunda y/o la al menos otra composición, pueda administrarse la dosis predeterminada de esta sustancia activa. De manera particularmente preferida, esta sustancia activa es la al menos una insulina.

- 40 La proporción en peso de la otra de las dos sustancias activas, es decir, de la al menos una insulina o del al menos un agonista de GLP-1, en la primera composición farmacéutica, la segunda composición farmacéutica y, eventualmente, la al menos otra composición farmacéutica se elige preferiblemente de modo que las relaciones de insulina a agonista de GLP-1, referidas a la proporción en peso, aumentan de la primera a la segunda y, eventualmente, otras composiciones. De manera particularmente preferida, esta sustancia activa es el al menos un antagonista de GLP-1.

- 45 Además de ello, la proporción en peso de la otra de las dos sustancias activas en las composiciones farmacéuticas se determina de modo que una de las composiciones farmacéuticas se puede elegir de modo que la dosis a administrar de la primera de las dos sustancias activas y la dosis a administrar de la segunda sustancia activa se dan en un determinado volumen. Con ello, se elige una composición farmacéutica que contiene la relación deseada.

- 50 Teóricamente, para cada una de las relaciones terapéuticas deseadas de las proporciones en peso de la al menos una insulina a al menos un agonista de GLP-1, se puede proporcionar una composición farmacéutica con el fin de lograr una dosificación óptima, conforme a las necesidades, para las dos sustancias activas para cada paciente.

En la presente invención, es suficiente un determinado número de composiciones farmacéuticas para generar las dosis necesarias en la práctica para las dos sustancias activas. Para cada uno de los pacientes se determina un cierto Intervalo de dosificación dentro de un intervalo terapéuticamente conveniente para cada una de las sustancias activas.

La dosis a administrar debería oscilar en este caso para un determinado paciente sustancialmente dentro de este intervalo de dosis, sin que se presente una sobredosificación o una infradosificación.

Puesto que, en primer lugar, la cantidad de insulina debe ser adaptada y dosificada con precisión al paciente individual, el intervalo de concentraciones de agonista de GLP-1 permite que una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, que contiene una determinada relación de la al menos una insulina al al menos un agonista de GLP-1, cubra un intervalo terapéutico de dosificaciones de insulina simultáneamente con la cantidad de agonista de GLP-1 sinérgica asociada. La relación se puede seleccionar de manera que para cualquier dosificación de insulina deseada corresponda una dosificación del al menos un agonista de GLP-1 que se encuentre dentro del intervalo deseado, p. ej. del intervalo sinérgico. Tal como se ha indicado anteriormente, las relaciones de la primera, segunda y, eventualmente, al menos otra composición del medicamento pueden elegirse de modo que aumenten las relaciones de la primera a la segunda y, eventualmente, de la al menos otra composición. Si la dosificación del agonista de GLP-1 en la dosificación de insulina deseada de una composición (p. ej. de la primera composición) se encuentra fuera (por lo general, por encima) del intervalo de dosificación deseado del agonista de GLP-1, entonces la siguiente composición (p. ej. la segunda composición) u otra composición se elige para la aplicación con una relación mayor de la al menos una insulina al al menos un agonista de GLP-1, en la que la cantidad del agonista de GLP-1 a la dosis deseada de insulina se encuentra en el intervalo deseado. Las relaciones de la primera, segunda y, eventualmente, al menos otra composición de la combinación también se pueden seleccionar de tal manera que los intervalos de las dosificaciones de insulina, que corresponden a las dosificaciones deseadas del al menos un agonista de GLP-1, se suman entre sí y/o se solapan entre sí. Preferiblemente, los intervalos se solapan. Solapamiento significa, en particular, que se pueden elegir al menos dos composiciones, que, en el caso de la dosificación deseada de la al menos una insulina contienen en cada caso una cantidad del al menos un agonista de GLP-1 que se encuentra dentro del intervalo de dosificación deseado.

Por ejemplo, son suficientes 3 composiciones para ajustar la dosis de la al menos una insulina para un paciente individual a un valor elegido del intervalo de 15 a 80 unidades de insulina y, al mismo tiempo, dosificar el agonista de GLP-1 con una cantidad dentro del intervalo de 10 a 20 µg (véase la Figura 4).

Del mismo modo, se puede proporcionar una combinación de acuerdo con la invención en la que la relación se elija de modo que a cualquier dosificación deseada del agonista de GLP-1 corresponda una dosificación de la al menos una insulina que se encuentre dentro del intervalo deseado. Las relaciones de la primera, segunda y, eventualmente, al menos otra composición del medicamento pueden elegirse, además, de manera que los intervalos de las dosificaciones de los agonistas de GLP-1, que corresponden a las dosificaciones deseadas de la al menos una insulina, se suman entre sí y/o se solapan entre sí. Preferiblemente, los intervalos se solapan. Solapamiento significa, a este respecto, en particular, que se pueden elegir al menos dos composiciones, que, en el caso de la dosificación deseada del al menos un agonista de GLP-1, contienen en cada caso una cantidad de la al menos una insulina que se encuentra dentro del intervalo de dosificación deseado.

Preferiblemente, la combinación de acuerdo con la invención contiene un máximo de 10 composiciones farmacéuticas como se han definido anteriormente, más preferiblemente como máximo 5, como máximo 4, como máximo 3 ó 2 composiciones farmacéuticas.

Las composiciones de acuerdo con la invención pueden contener al al menos un agonista de GLP-1 en cada caso en proporciones en peso idénticas o diferentes. Por ejemplo, al menos dos de las composiciones de acuerdo con la invención pueden contener al al menos un agonista de GLP-1 en una proporción en peso sustancialmente idéntica.

Se prefiere que la primera, segunda y, eventualmente, otra u otras composiciones contengan el al menos un agonista de GLP-1 en una proporción en peso sustancialmente idéntica y a la al menos una insulina en diferentes proporciones en peso.

Sin embargo, las composiciones de acuerdo con la invención pueden contener también a la al menos una insulina en proporciones en peso en cada caso, idénticas o diferentes. Por ejemplo, al menos dos de las composiciones de acuerdo con la invención contienen a la al menos una insulina en una proporción en peso sustancialmente idéntica.

Se prefiere particularmente que la primera, segunda y, eventualmente, otra u otras composiciones contengan la al menos una insulina en una proporción en peso sustancialmente idéntica y contengan el al menos un agonista de GLP-1 en diferentes proporciones en peso.

Una primera composición de acuerdo con la invención preferida comprende:

- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| (a) AVE0010 | aproximadamente 0,025 mg |
| (b) insulina glargina | aproximadamente 3,64 mg |
| (c) cloruro de zinc | aproximadamente 0,06 mg |
| (d) glicerol al 85% | aproximadamente 20,0 mg |

	(e) m-cresol	aproximadamente 2,7 mg
	(f) L-metionina	aproximadamente 3,0 mg
	(g) NaOH	c.s.pH 4,5
	(h) HCl al 36%	c.s.pH 4,5
5	(i) agua	hasta 1 mL

Una segunda composición de acuerdo con la invención preferida comprende:

	(a) AVE0010	aproximadamente 0,04 mg
	(b) insulina glargina	aproximadamente 3,64 mg
	(c) cloruro de zinc	aproximadamente 0,06 mg
10	(d) glicerol al 85%	aproximadamente 20,0 mg
	(e) m-cresol	aproximadamente 2,7 mg
	(f) L-metionina	aproximadamente 3,0 mg
	(g) NaOH	c.s.pH 4,5
	(h) HCl al 36%	c.s.pH 4,5
15	(i) agua	hasta 1 mL

Una tercera composición de acuerdo con la invención preferida comprende:

	(a) AVE0010	aproximadamente 0,066 mg
	(b) insulina glargina	aproximadamente 3,64 mg
	(c) cloruro de zinc	aproximadamente 0,06 mg
20	(d) glicerol al 85%	aproximadamente 20,0 mg
	(e) m-cresol	aproximadamente 2,7 mg
	(f) L-metionina	aproximadamente 3,0 mg
	(g) NaOH	c.s.pH 4,5
	(h) HCl al 36%	c.s.pH 4,5
25	(i) agua	hasta 1 mL

Una cuarta composición de acuerdo con la invención preferida comprende:

	(a) AVE0010	aproximadamente 0,1 mg
	(b) insulina glargina	aproximadamente 3,64 mg
	(c) cloruro de zinc	aproximadamente 0,06 mg
30	(d) glicerol al 85%	aproximadamente 20,0 mg
	(e) m-cresol	aproximadamente 2,7 mg
	(f) L-metionina	aproximadamente 3,0 mg
	(g) NaOH	c.s.pH 4,5
	(h) HCl al 36%	c.s.pH 4,5
35	(i) agua	hasta 1 mL

Se prefiere particularmente una combinación que comprende al menos 2, 3 ó 4 de la primera, segunda, tercera y cuarta composiciones preferidas mencionadas.

"Aproximadamente" significa en la presente solicitud que los ingredientes pueden estar presentes, p. ej., dentro de los intervalos de ± 10 , ± 20 o ± 30 en torno a los valores numéricos especificados en las composiciones y/o combinaciones de acuerdo con la invención; se prefiere ± 10 .

5 En la medida en que la composición o combinación de acuerdo con la invención comprenda más de una insulina, estas insulinas se seleccionan independientemente una de otra.

En la medida en que la composición o combinación de acuerdo con la invención comprenda más de un agonista de GLP-1, estos agonistas de GLP-1 se seleccionan independientemente uno de otro.

La combinación de acuerdo con la invención se proporciona, en particular, como un medicamento.

10 Otro objeto de acuerdo con la invención es un kit que comprende una combinación de acuerdo con la invención que comprende al menos una, como máximo cuatro, composiciones de acuerdo con la invención, así como, eventualmente, Lantus®. El kit de acuerdo con la invención puede estar previsto para la aplicación por personal médico o por profanos médicos, en especial los propios pacientes o personal auxiliar tales como familiares. En el kit de acuerdo con la invención, las composiciones individuales, que comprenden la combinación de acuerdo con la invención, están reunidas en envases separados, de modo que el paciente puede elegir la composición adaptada a las necesidades
15 actuales y puede administrar una cantidad conforme a las necesidades. El kit de acuerdo con la invención comprende, por ejemplo, la combinación de acuerdo con la invención en forma de un conjunto de jeringas, viales de vidrio y/o lápices, que contienen al menos una de las composiciones de acuerdo con la invención, eventualmente en combinación con la composición de Lantus®.

20 Un envase adecuado es una jeringa o un recipiente de vidrio con un cierre apropiado, a partir del cual se pueden tomar, cuando sea necesario, las dosis terapéuticamente eficaces individuales. También son adecuados lápices para inyección ("lápices", "plumas") para la administración de insulina, que comprenden un recipiente (p. ej. un cartucho) que contiene una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

25 En particular, el kit de acuerdo con la invención es un lápiz para inyección que se compone de dos recipientes separados de los que se pueden tomar, cuando es necesario, en cada caso dosis terapéuticas individuales. Asimismo, el kit es una jeringa que se compone de dos recipientes, en el que el segundo recipiente está configurado como Reservoir needle (aguja de reservorio).

30 En la presente invención, el kit se compone preferiblemente de una combinación a base de una primera formulación que contiene el agonista de GLP-1, una insulina, glicerol, cloruro de zinc, eventualmente m-cresol, L-metionina, a un valor pH de 4,5 en agua, y una segunda formulación, que contiene preferiblemente una insulina, glicerol, cloruro de zinc y m-cresol a un valor de pH de 4,5 en agua.

La primera formulación puede tener preferiblemente la siguiente composición:

	(a) AVE0010	aproximadamente 0,4 mg o aproximadamente 0,8 mg
	(b) insulina glargina	aproximadamente 3,64 mg
	(c) cloruro de zinc	aproximadamente 0,06 mg
35	(d) glicerol al 85%	aproximadamente 20,0 mg
	(e) m-cresol	0,0 mg o aproximadamente 2,7 mg
	(f) L-metionina	aproximadamente 3,0 mg
	(g) NaOH	c.s.pH 4,5
	(h) HCl al 36%	c.s.pH 4,5
40	(i) agua	hasta 1 ml.

La segunda formulación puede tener preferiblemente la siguiente composición:

	(a) insulina glargina	aproximadamente 3,64 mg
	(b) cloruro de zinc	aproximadamente 0,06 mg
	(c) glicerol al 85%	aproximadamente 20,0 mg
45	(d) m-cresol	aproximadamente 2,7 mg
	(e) NaOH	c.s.pH 4,5

- | | |
|----------------|-------------|
| (f) HCl al 36% | c.s.pH 4,5 |
| (g) agua | hasta 1 ml. |

Además se describe un procedimiento para el tratamiento de un paciente con una composición de acuerdo con la invención, que comprende administrar la composición al paciente.

- 5 Asimismo se describe un procedimiento para el tratamiento de un paciente con una combinación de acuerdo con la invención o un kit tal como se describe en esta memoria. En particular, este procedimiento comprende la administración de una combinación de acuerdo con la invención que comprende una primera composición farmacéutica y una segunda composición farmacéutica y, eventualmente, al menos otra composición farmacéutica, que en cada caso comprenden al menos una insulina y al menos un agonista de GLP-1 y que contiene al menos una insulina y/o el al
- 10 menos un agonista de GLP-1 en diferentes proporciones en peso, basado en el peso total de la composición, comprendiendo el procedimiento:

- (a) selección de una dosis de la al menos una insulina que ha de ser administrada,
- (b) selección de una dosis del al menos un agonista de GLP-1 que ha de ser administrado,
- 15 (c) selección de una composición de la primera, segunda y, eventualmente, al menos otra composición del medicamento que contiene las dosis de (a) y (b) en una concentración tal que las dosis de (a) y (b) se presentan en el mismo volumen, y
- (d) determinación y administración de una cantidad correspondiente a las dosis de (a) y (b).

La determinación de la dosis según la etapa (a) y/o la etapa (b) tiene lugar de acuerdo con la necesidad individual del paciente.

- 20 La etapa (c) del procedimiento de tratamiento puede llevarse a cabo con ayuda de una tabla. Esta tabla puede ser componente de la combinación de acuerdo con la invención, del medicamento de acuerdo con la invención o del kit de acuerdo con la invención. El Ejemplo 2 contiene un ejemplo de una tabla de acuerdo con la invención.

- La composición de acuerdo con la invención, la combinación de acuerdo con la invención, el medicamento de acuerdo con la invención y/o el kit de acuerdo con la invención está previsto, en particular, para el tratamiento de diabetes mellitus, especialmente para el tratamiento de diabetes mellitus tipo I o tipo II. Otras indicaciones posibles son síntomas que están asociados con la diabetes mellitus. Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención se emplea para ajustar la concentración de glucosa en plasma en ayunas, post-prandial y/o post-absorción, para mejorar la tolerancia a la glucosa, para la prevención de una hipoglucemia, para la prevención de una pérdida de la función de las células β del páncreas, para la pérdida de peso y/o para la prevención de un aumento de peso.
- 25

- 30 Además se describe un procedimiento para preparar una composición de acuerdo con la invención, una combinación de acuerdo con la invención y/o un kit de acuerdo con la invención, que comprende la formulación de un agonista de GLP-1 y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo con una insulina y/o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, metionina y eventualmente al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

- 35 Asimismo se describe un procedimiento para preparar una composición de acuerdo con la invención que comprende la formulación de un agonista de GLP-1 y/o de una sal farmacológicamente tolerable del mismo con metionina y eventualmente al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

Además se describe el uso de las composiciones de acuerdo con la invención junto con la administración de metformina, insulina glargina o AVE0010, en particular, en una terapia adicional para la administración de metformina, insulina glargina o AVE0010.

- 40 En particular, la composición contiene des Pro³⁶ exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ (AVE0010) y/o una sal farmacológicamente tolerable del mismo, insulina glargina y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma.

Particularmente preferido es la terapia adicional de la composición preferida en pacientes de diabetes tipo II que no pueden ser controlados lo suficientemente con insulina glargina y/o AVE0010. También se ven afectados pacientes menores de 50 años y/o que tienen un índice de masa corporal de al menos 30.

- 45 La terapia adicional implica, en particular, el tratamiento de la diabetes tipo II con la composición de acuerdo con la invención como un complemento a metformina, AVE0010 y/o insulina glargina. La composición de acuerdo con la invención se puede añadir en un intervalo de tiempo de 24 h (dosificación de una vez al día). Metformina, insulina glargina y AVE0010 se pueden administrar por diversas vías de administración. La metformina se puede administrar por vía oral, AVE0010 y la insulina glargina, en cada caso por vía subcutánea.

- 50 Los pacientes que fueron tratados con la terapia adicional descrita pueden tener un valor de HbA1c de 7% a 10%. Tienen preferiblemente una edad de 18 a 50 años.

El uso en la terapia adicional es particularmente aplicable a pacientes, en lo que la diabetes tipo II no puede ser controlada lo suficientemente por sí sola con metformina, AVE0010 o insulina glargina. Se prefiere la terapia para un control no suficiente por parte de insulina glargina o AVE0010.

- 5 Además se describe el uso de la composición de acuerdo con la invención, como complemento de una dieta para controlar los niveles de azúcar en sangre en pacientes diabéticos tipo II cuando está indicado el uso de la insulina glargina y AVE0010.

En particular, metformina se administra al menos 1,0 g/día, preferiblemente al menos 1,5 g/día durante 3 meses.

La invención se ilustra adicionalmente mediante las siguientes Figuras y Ejemplos.

- 10 La Figura 1 muestra el contenido de metionina oxidada Met(ox) en AVE0010 después de 1 mes de almacenamiento a diferentes temperaturas en relación con el instante de partida. El recuadro muestra los valores para la formulación de referencia AVE0010 N° 1 y 2.

La Figura 2 muestra el contenido de impurezas de AVE0010 sin Met(ox) después de 1 mes de almacenamiento a diferentes temperaturas en relación con el instante de partida.

Los recuadros muestran los valores de las formulaciones de referencia AVE0010 a 25°C o bien a 40°C.

- 15 La Figura 3 muestra el contenido de impurezas de la insulina glargina después de 1 mes de almacenamiento a diferentes temperaturas en relación con el instante de partida. Los marcos estrechos muestran los valores de formulaciones de referencia de insulina glargina a 25°C o a 40°C. Los marcos anchos caracterizan las formulaciones con las proporciones más bajas de impurezas AVE0010.

Figura 4: El concepto "3 plumas cubren todo".

20 Ejemplo 1

1. Objeto de la investigación

Se sometió a ensayo la estabilidad física y química de composiciones que comprenden un agonista de GLP-1 (AVE0010) y una insulina (insulina glargina, Lantus).

2. Formulaciones empleadas

- 25 Para las formulaciones sometidas a ensayo, las sustancias se emplearon en las siguientes concentraciones/cantidades.

Sustancia	Farmacopea	Fabricante	Denominación	Cantidad empleada [mg/mL]
Insulina glargina		Sanofi-Aventis		3,63
				7,27
				10,67
AVE0010		Poly Peptide Lab Torrance CA, EE.UU.		0,1
				0,025
Metionina	USP	MP Biomedicals		3
Cloruro de zinc	F. Eur., USP, BP	Merck		0,03
				0,06
				0,09
Glicerol al 85%	F. Eur., JP.	Hedinger, Stuttgart		20
				18
m-cresol	F. Eur., USP	Hedinger, Stuttgart		2,7
Polisorbato 20	F. Eur., JP	Kolb	Tween 20	0,02

Polisorbato 80	F. Eur.	SEPPIC	Tween 80	0,02
Poloxámero 188		BASF, Ludwigshafen	Lutrol F68	0,02
Cloruro de benzalconio	F. Eur., JP	Sigma-Aldrich		0,02
L-lisina		Resum, F-Ham, Degussa		1,0 5,0
Acetato				1,75 3,5
NaOH	F. Eur., JP	Merck		0,1 N para el ajuste del pH 4,0 ó 4,5
HCl	F. Eur., JP	Merck		0,1 N para el ajuste del pH 4,0 ó 4,5
Wfl				Hasta 1 mL

En la medida en que en relación con un componente en una formulación se apunte un factor (p. ej. 1/2, 1/4, 2x, 3x, 5x, tal como en 1/2 acetato, 5x lisina, 2x Lantus y 3x Lantus), las concentraciones de la sustancia en cuestión se emplean en una concentración reducida o incrementada en un factor.

3. Procedimientos de ensayo

5 3.1 Estabilidad física

3.1.1 Ensayo THT

Tioflavina T (THT) se une específicamente a fibrillas de proteína, lo cual conduce a una modificación de la fluorescencia de THT. THT no se une a AVE0010 ni a insulina. La cinética de la formación de fibrillas se puede medir en presencia de THT como un cambio en la fluorescencia. Un aumento en la fluorescencia corresponde a una formación de fibrillas. La forma de las curvas permite sacar conclusiones acerca de la tendencia de una formulación para formar fibrillas.

Las mediciones de fluorescencia se realizaron en un aparato medidor de la fluorescencia Tecan Infinite 200. Para analizar la cinética de fibrilación se utilizó un lector de microplacas de fluorescencia a alta temperatura Photomed FluoDia 770. Los espectros de fluorescencia de tioflavina-T se realizaron con un aparato medidor de la fluorescencia Tecan Infinite 200 a 23°C. 900 µl de insulina se mezclaron con 10 µl de tioflavina T (1 mM en H₂O). A continuación, la mezcla se repartió en una placa de 96 pocillos en forma de V negra de Biozym (100 µl por pocillo). La emisión de fluorescencia se midió entre 470 y 600 nm (anchura de paso 1 nm) después de excitación a 450 nm con una ganancia de 100, un tiempo de integración de 200 µs y 25 lecturas a temperatura ambiente.

La cinética de unión de tioflavina T se midió en un lector de microplacas de fluorescencia a alta temperatura Photomed FluoDia 770. El instrumento se compone esencialmente de una lámpara halógena de cuarzo de 50W para la excitación, ruedas de filtros para la excitación y emisión, que puede contener hasta 4 conjuntos de filtros y un detector PMT. La placa caliente para placas de 96 pocillos permite una muy alta precisión de temperatura (mejor que ± 0,3°C).

10 µl de una disolución de tioflavina T (10,1 mM en agua ultrapura) se añadieron a 1 ml de las formulaciones y se mezclaron ligeramente, invirtiendo los tubitos varias veces. A continuación, la mezcla se repartió en una placa de 96 pocillos en forma de V negra de Biozym (100 µl por pocillo, 8 pocillos por muestra). Todas las mediciones se realizaron con los siguientes parámetros:

Número de ciclos:	181
Filtro de excitación:	450 nm
Intervalo:	1 min
Filtro de emisión:	486 nm
Tiempo de integración:	20 ms
Control de temperatura:	modo de control de temperatura estándar

Número de cálculos de la media	4
Temperatura objetivo:	70°C
Atenuación:	4

Los valores medios de fluorescencia se determinaron a partir de 8 mediciones paralelas.

5 3.2 Estabilidad química

Las formulaciones se ensayaron para determinar la estabilidad química después de la preparación (t0) o después del almacenamiento durante 1 mes a 4°C, 25°C (humedad relativa 60%) y 40°C (humedad relativa 75%). Las mediciones se realizaron en un aparato de HPLC (tipo alliance) de Water Systems, en el que se utilizó el método de la superficie del pico 100%. Para la separación se utilizó un gradiente de TFA al 0,1% y acetonitrilo como fase móvil y un ácido de fase inversa C18 (Jupiter) como fase sólida. Para el análisis, la formulación se trató con una disolución de acetato de zinc, lo cual condujo a la precipitación de insulina glargina. Los precipitados se separaron mediante centrifugación y se analizó sólo el sobrenadante.

Impurezas de insulina glargina: La cantidad de impurezas se determinó con una HPLC (Water Systems), en el que se utilizó el método de la superficie del pico 100%. Para la separación se utilizó como fase móvil una disolución tamponada con fosfato de sodio (pH 2,5) con un gradiente de NaCl y acetonitrilo. Como fase estacionaria se utilizó un ácido de fase inversa C18 (Supersher).

4 Resumen de los datos experimentales respecto a la estabilidad física

Formulación		Composición	pH	THT 3h, 70°C intensidad de fluorescencia relativa a 486 nm
Nº	Carga			
1	630	AVE0010 Standard escala industrial	4,5	536
2	567	AVE0010 Standard reciente	4	518
3	631	Lantus Standard escala industrial	4,0	2952
4	560	Lantus Standard Reciente	4	1566
5	568	Lantus form., AVE0010	4	2037
6	569	Lantus form., AVE0010 1/2 tampón acetato	4	11763
7	570	Lantus form., AVE0010 tampón acetato	4	69184
8	582	Lantus form., AVE0010 metionina	4	2053
9	583	Lantus form., AVE0010 1/2 tampón acetato Metionina	4	18814
10	584	Lantus form., AVE0010	4	8183

ES 2 855 146 T3

Formulación		Composición	pH	THT 3h, 70°C intensidad de fluorescencia relativa a 486 nm
		polisorbato 20		
11	585	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 metionina	4	6731
12	586	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 1/2 tampón acetato	4	13897
13	587	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 1/2 tampón acetato metionina	4	22200
14	588	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 tampón acetato metionina	4	134093
15	590	Lantus form., AVE0010 Lisina	4	3362
16	591	Lantus form., AVE0010 lisina 1/2 tampón acetato	4	19677
17	592	Lantus form., AVE0010 Lisina 1/2 tampón acetato polisorbato 20	4	30176
18	593	Lantus form., 1/4 AVE0010	4	3107
19	594	Lantus form., 1/4 AVE0010 5x lisina	4	74662
20	595	2x Lantus AVE0010	4	4504
21	596	3x Lantus AVE0010	4	30251
22	604	Lantus form., AVE0010	4,5	4357

ES 2 855 146 T3

Formulación		Composición	pH	THT 3h, 70°C intensidad de fluorescencia relativa a 486 nm
23	605	Lantus form., AVE0010 1/2 tampón acetato	4,5	36338
24	606	Lantus form., AVE0010 tampón acetato	4,5	72370
25	607	Lantus form., AVE0010 metionina	4,5	5429
26	608	Lantus form., AVE0010 1/2 tampón acetato Metionina	4,5	34714
27	609	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20	4,5	1166
28	610	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 metionina	4,5	5564
29	611	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 1/2 tampón acetato	4,5	12115
30	612	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 1/2 tampón acetato metionina	4,5	16397
31	613	Lantus form., AVE0010 polisorbato 20 tampón acetato metionina	4,5	779
32	614	Lantus form., AVE0010 Lisina	4,5	9726
33	615	Lantus form., AVE0010 lisina 1/2 tampón acetato	4,5	74027
34	616	Lantus form., AVE0010 lisina 1/2 tampón acetato	4,5	9520

ES 2 855 146 T3

Formulación		Composición	pH	THT 3h, 70°C intensidad de fluorescencia relativa a 486 nm
		polisorbato 20		
35	617	Lantus form., 1/4 AVE0010	4,5	3713
36	618	Lantus form., 1/4 AVE0010 5x lisina	4,5	83384
37	619	2x Lantus AVE0010	4,5	13120
38	620	3x Lantus AVE0010	4,5	41684
39	657	Lantus form., AVE0010 polisorbato 80 metionina	4	9309
40	658	Lantus form., AVE0010 poloxámero 188 metionina	4	767
41	659	Lantus form., AVE0010 cloruro de benzalconio metionina	4	1040
42	660	Lantus form., AVE0010 polisorbato 80 metionina	4,5	16803
43	661	Lantus form., AVE0010 poloxámero 188 metionina	4,5	689
44	662	Lantus form., AVE0010 cloruro de benzalconio metionina	4,5	942

5. Ensayo de THT

La metionina no tiene efecto alguno sobre la tendencia a la formación de fibrillas. Las formulaciones

Nº	composición	intensidad de fluorescencia a 486 nm
2	AVE0010 Standard	518
4	Lantus Standard	1566
8	Lantus form., AVE0010, metionina pH 4	2053
25	Lantus form., AVE0010, metionina pH 4,5	5429

presentan valores de fluorescencia iguales a los de las formulaciones de referencia (N^{os} 2 y 4). En el caso de valores por debajo de aproximadamente 6000 no se presenta tendencia a la fibrilación alguna.

Si AVE0010, Lantus y metionina con tampón de acetato con o sin polisorbato 20 se combinan a pH 4, existe una mayor tendencia a la fibrilación:

5	N ^o	composición	intensidad de fluorescencia a 486 nm
	2	AVE0010 Standard	518
	4	Lantus Standard	1566
	9	Lantus form., AVE0010, ½ acetato, met. pH 4	18814
	13	Lantus form., AVE0010, polisorbato 20, ½ acetato, met pH 4	22200
10	14	Lantus form., AVE0010, polisorbato 20, acetato, met pH 4	134093

Los valores para las formulaciones 13 y 14 se encuentran claramente por encima del umbral para una tendencia a la fibrilación.

6.1 Resumen

Polisorbato 20 y polisorbato 80 puede conducir a una turbidez, que se puede demostrar en el ensayo de birrefringencia. Con ello, estas dos sustancias pueden conducir a una inestabilidad física de una formulación de AVE0010 e insulina. La adición de metionina no conduce a una inestabilidad física.

7. Estabilidad química

7.1 Estabilidad en el instante t₀

Las formulaciones que contienen metionina (con y sin acetato de sodio) presentan las cantidades más pequeñas de impurezas (en total, aproximadamente 1,2 a 1,5%). Las siguientes formulaciones presentan pequeñas cantidades de impurezas.

8 Lantus form., AVE0010, metionina, pH 4

9 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, metionina, pH 4

11 Lantus form., AVE0010, polisorbato 20, metionina, pH 4

25 13 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, polisorbato 20, metionina, pH 4

14 Lantus form., AVE0010, tampon acetato, polisorbato 20, metionina, pH 4

25 Lantus formo., AVE0010, metionina, pH 4,5

26 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, metionina, pH 4,5

28 Lantus form., AVE0010, polisorbato 20, metionina, pH 4,5

30 30 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, polisorbato 20, metionina, pH 4,5

31 Lantus form., AVE0010, tampón acetato, polisorbato 20, metionina, pH 4,5

Formulaciones que no contenían metionina, mostraron una mayor proporción de impurezas.

Polisorbato 20 no tiene influencia negativa alguna sobre la estabilidad química de las formulaciones.

35 Tampón de acetato no tiene entonces influencia negativa alguna sobre la estabilidad química, cuando se combina con metionina y polisorbato 20.

Cuando en las formulaciones está presente lisina, la suma de las impurezas es mayor. Lo mismo se aplica a formulaciones que contienen polisorbato 80, poloxámero 188 y cloruro de benzalconio.

La determinación de impurezas de insulina glargina mostró que todas las formulaciones presentaban cantidades similares de impurezas (0,3 a 0,4%).

7.2 Estabilidad después de 1 mes

7.2.1 Impurezas de AVE0010

Se analizó el contenido de metionina oxidada en las formulaciones. La secuencia de AVE0010 presenta en la posición 14 un residuo metionina. La secuencia de la insulina glargina no presenta residuo metionina alguno. Por lo tanto, el contenido de metionina oxidada es indicativo para la oxidación de AVE0010 en el residuo metionina. Los datos se resumen en la Fig. 1. En suma, los datos demuestran que sin metionina a un valor de pH de 4,5 la proporción de Met(ox) es mayor que a pH 4,0. Sin metionina como componente de la formulación, las proporciones de Met(ox) son las mayores cuando se incrementa el contenido en insulina glargina o se reduce el contenido en AVE0010.

En general, las mayores proporciones de Met(ox) se midieron en el caso de un almacenamiento a 40°C/ humedad relativa del aire 75%. En este caso, los niveles más bajos de Met(ox)-AVE0010 (<1%) se encuentran en las formulaciones 8, 9, 11, 13, 14, 25, 26, 28, 30 y 31. Los valores de estas formulaciones se encuentran en el intervalo de los valores para las formulaciones de referencia N°s 1 y 2 de AVE0010 (recuadro en la Figura 1).

Las impurezas de AVE0010 después de 1 mes sin Met(ox) se representan en la Figura 2. Los recuadros muestran los valores de las formulaciones de referencia de AVE0010 a 25°C o bien a 40°C. Formulaciones que tienen los mismos o mejores valores de impurezas que las formulaciones de referencia AVE0010, se encuentran dentro del recuadro o debajo del mismo. Esto se aplica a las formulaciones 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 33 y 34 (40°C). Valores de impurezas, que se encuentran por encima de los valores de impurezas de las formulaciones de referencia AVE0010, apuntan a impurezas de insulina glargina. En general, las formulaciones con un pH de 4,5 presentan menos impurezas que a un pH de 4,0.

Las siguientes formulaciones presentan, después de almacenamiento durante un mes a 40°C, el contenido más bajo de Met(ox), y al mismo tiempo los contenidos más bajos de otras impurezas (comparación de las Figuras 1 y 2). Son mejores que o iguales a las formulaciones de referencia AVE0010:

25 Lantus form., AVE0010, metionina, pH 4,5

26 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, metionina, pH 4,5

28 Lantus form., AVE0010, polisorbato 20, metionina, pH 4,5

30 Lantus form., AVE0010, 1/2 tampón acetato, polisorbato 20, metionina, pH 4,5

Estas formulaciones pertenecían también a las formulaciones que en el instante t0 presentan las menores cantidades de impurezas AVE0010. Todas las formulaciones contienen metionina. Polisorbato 20 no tiene efectos negativos sobre las impurezas.

Las impurezas de insulina glargina se representan en la Figura 3. Las formulaciones 3 y 4 son las formulaciones de referencia para la insulina glargina. Los valores de estas formulaciones se caracterizan como recuadros estrechos. Todas las formulaciones que fueron identificadas, en términos de las impurezas AVE0010, como las mejores formulaciones (recuadros anchos, en particular, las formulaciones 25, 26, 28 y 30), son, en relación con las impurezas de insulina glargina, mejores que las formulaciones de referencia de insulina glargina (por ejemplo, 1,5 a 2,4% a 40°C).

De ello, a partir de este experimento se puede concluir que la metionina provoca una estabilidad al almacenamiento incrementada de una composición que comprende una insulina (p. ej. Lantus) y un agonista de GLP-1 (p. ej. AVE0010). La adición de metionina provoca una integridad química de esta composición.

8. Conclusiones

Los datos descritos en esta memoria conducen a las siguientes conclusiones:

• Metionina conduce a una estabilidad química incrementada y no tiene impacto negativo alguno sobre la estabilidad física de formulaciones de una combinación de un agonista de GLP-1, en particular, AVE0010, y una insulina, en particular Lantus. Por lo tanto, metionina es ventajosa como componente de estas composiciones.

• Acetato puede conducir a una inestabilidad física. Esta inestabilidad aumenta al aumentar la concentración de acetato. Por lo tanto, formulaciones de una combinación de un agonista de GLP-1, en particular AVE0010, y una insulina, en particular, Lantus, que están exentas de acetato, son ventajosas respecto a composiciones correspondientes que contienen acetato.

• Polisorbato 20 no tiene impacto negativo alguno sobre la estabilidad física y la estabilidad química de formulaciones de una combinación de un agonista de GLP-1, en particular AVE0010, y una insulina, en particular Lantus. Mediante la combinación de acetato en concentraciones más bajas (1/2 de acetato) con polisorbato 20, pueden compensarse en parte los efectos negativos de acetato. En composiciones exentas de acetato, la adición de polisorbato 20 no conduce a ventajas. Por lo tanto, deberían prepararse formulaciones de una combinación de un agonista de GLP-1, en particular AVE0010, y una insulina, en particular Lantus, que estén exentas de polisorbato 20.

• Lisina (en concentraciones normales y superiores), cloruro de benzalconio, polisorbato 80 y poloxámero 188 mostraron una inestabilidad química ya al comienzo de las investigaciones (t₀). Para lisina, esto también es cierto para los resultados del ensayo THT.

Ejemplo 2

5 El concepto "3 plumas cubren todo" (Fig. 4)

• 3 lápices pines de premezcla (plumas de premezcla) con 3 relaciones predeterminadas diferentes:

(e) Mezcla A: 100 U de Lantus + 66,66 µg de AVE0010 por mL

(f) Mezcla B: 100 U de Lantus + 40 µg de AVE0010 por mL

(g) Mezcla C 100 U Lantus + 25 µg de AVE0010 por mL

10 • Empleo de los 3 lápices de premezcla. La Tabla ilustrativa en la Fig. 4 parte de un intervalo terapéutico de 15 a 80 U por dosis de Lantus y de 10 a 20 µg de AVE0010. Para un paciente determinado se establece o bien se predetermina una dosis de Lantus a administrar. La dosis predeterminada se busca en la columna de la izquierda. En la medida en que en las columnas MEZCLA A - MEZCLA C se mencione una dosis de AVE0010 correspondiente en el intervalo entre 10 y 20 µg, se elige, dosifica y administra la MEZCLA correspondiente. Los intervalos son solapantes: p. ej., en
15 el caso necesario de 26 a 30 U de Lantus, podría elegirse Mezcla A o MEZCLA B (con una dosis más alta de AVE0010). Lo correspondiente se cumple para las MEZCLAS B y C. Por ejemplo, si se determina una dosis de 50 U de insulina, entonces se han de dosificar 0,5 ml de MEZCLA B o MEZCLA C. Esta dosis contiene 20 µg (MEZCLA B) o bien 12,5 µg (MEZCLA C) de AVE0010.

20 • Conclusión: Bajo el supuesto de que se alcance un probable efecto de AVE0010 entre 10 y 15 µg, y un efecto terapéutico entre 15 y 22 µg, casi todos los pacientes que toman dosis de Lantus de 15-80 U, pueden obtener asimismo dosis terapéuticas de AVE0010 entre 10 y 20 µg cuando utilicen uno de los tres lápices de premezcla que contienen tres relaciones diferentes de Lantus:AVE0010 (Mezcla A, B o C). En virtud del amplio intervalo de posibles relaciones de Lantus a AVE0010, las relaciones en los lápices se pueden ajustar de modo que para cada una de las dosis de Lantus esté contenido en al menos un lápiz una dosis deseada de AVE0010.

25

REIVINDICACIONES

1. Composición líquida que comprende 0,01 a 1,5 mg/ml, preferiblemente 0,01 a 0,5 mg/ml de desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma, 240 – 3.000 nmol/mL de Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma y, eventualmente, al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable, caracterizada por que contiene 0,5-20 mg/ml de metionina.
2. Composición líquida según la reivindicación 1, caracterizada por que contiene una sustancia conservante farmacéuticamente aceptable y/o un agente isotonzante farmacéuticamente aceptable.
3. Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que presenta un valor del pH de 3,5 a 5.
4. Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que presenta los siguientes componentes:
 - (a) desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma,
 - (b) Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana,
 - (c) cloruro de zinc,
 - (d) m-cresol (eventualmente),
 - (e) L-metionina,
 - (f) glicerol,
 - (g) ácido clorhídrico, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5,
 - (h) disolución de NaOH, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5, e
 - (i) agua.
5. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la sal farmacológicamente tolerable de desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ es acetato.
6. Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que presenta los siguientes componentes:
 - (a) desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ y/o un acetato de la misma,
 - (b) insulina glargina,
 - (c) cloruro de zinc,
 - (d) m-cresol (eventualmente),
 - (e) L-metionina,
 - (f) glicerol,
 - (g) ácido clorhídrico, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5,
 - (h) disolución de NaOH, en la medida en que sea necesario para ajustar un valor de pH de aproximadamente 4,5, e
 - (i) agua.
7. Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que es una composición inyectable.
8. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en el tratamiento de diabetes mellitus.
9. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en el tratamiento de diabetes mellitus de tipo I o de tipo II.
10. Composición para uso según la reivindicación 8 o 9, caracterizada por que éste tiene lugar junto con una administración de metformina, insulina y/o un agonista de GLP-1 y/o una sal farmacológicamente tolerable.
11. Composición para uso según la reivindicación 8 o 9, caracterizada por que éste tiene lugar junto con una administración de metformina y/o una sal farmacológicamente tolerable.
12. Composición para uso según una de las reivindicaciones 8 a 11, caracterizada por que la terapia se aplica a pacientes en los que la diabetes de tipo II no se puede controlar lo suficientemente con una insulina y/o un agonista de GLP-1.
13. Composición para uso según una de las reivindicaciones 8 a 12, como adición a una dieta, para controlar el nivel de azúcar en sangre en pacientes diabéticos tipo II cuando está indicado la aplicación de una insulina o un agonista de GLP-1.
14. Composición para uso según la reivindicación 10 u 11, caracterizada por que los pacientes tratados tienen un valor de HbA1c de 7% a 10%.
15. Composición para uso según una de las reivindicaciones 10 a 12, para el tratamiento de diabetes tipo II y/o de la obesidad.

16. Procedimiento para preparar una composición según una de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende la formulación de desPro³⁶exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂ y/o de una sal farmacológicamente tolerable del mismo con Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insulina humana y/o una sal farmacológicamente tolerable de la misma, metionina y eventualmente al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

Figura 1 Productos de oxidación después de 1 mes de almacenamiento

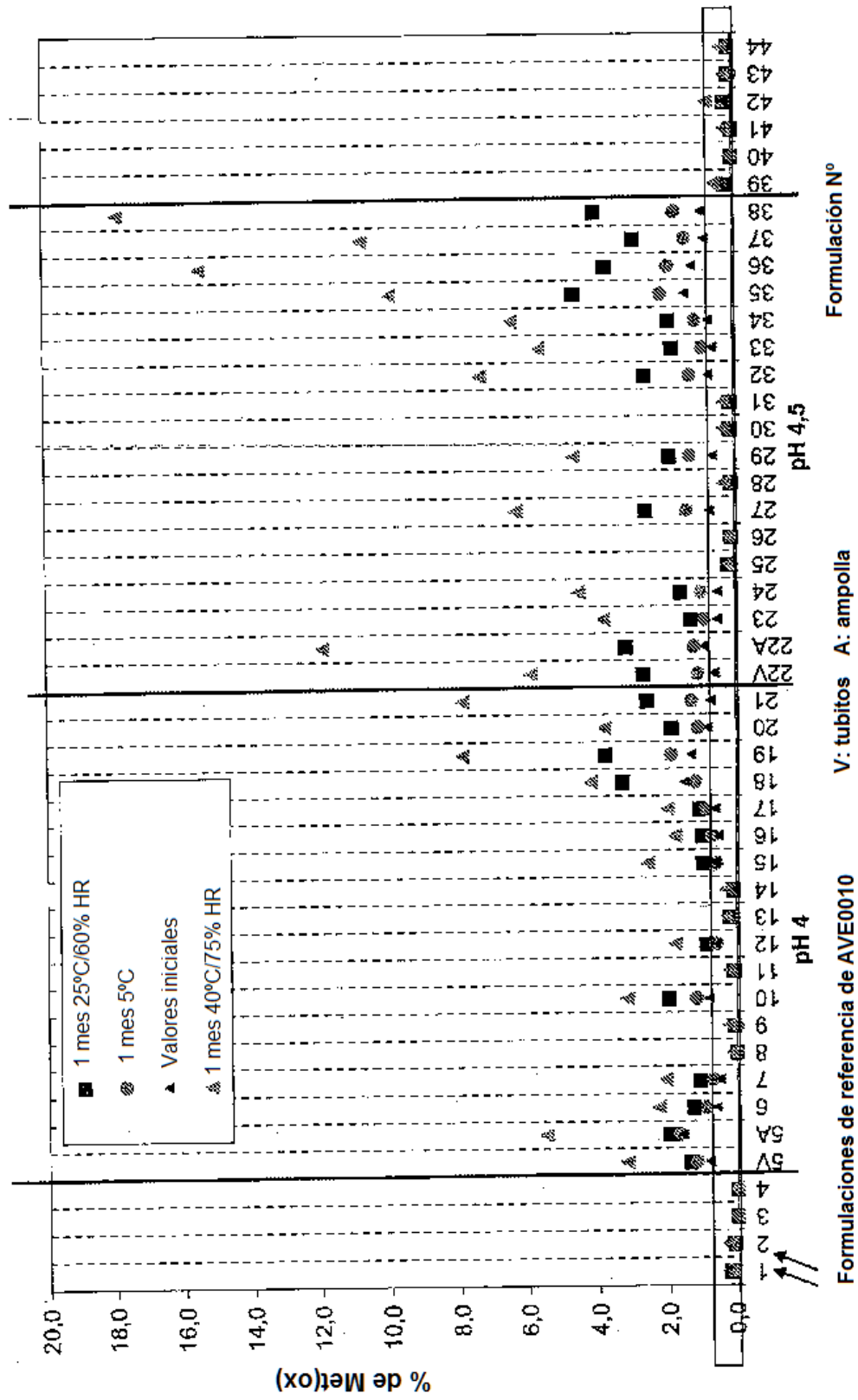


Figura 2 Impurezas después de 1 mes de almacenamiento sin Met(ox)

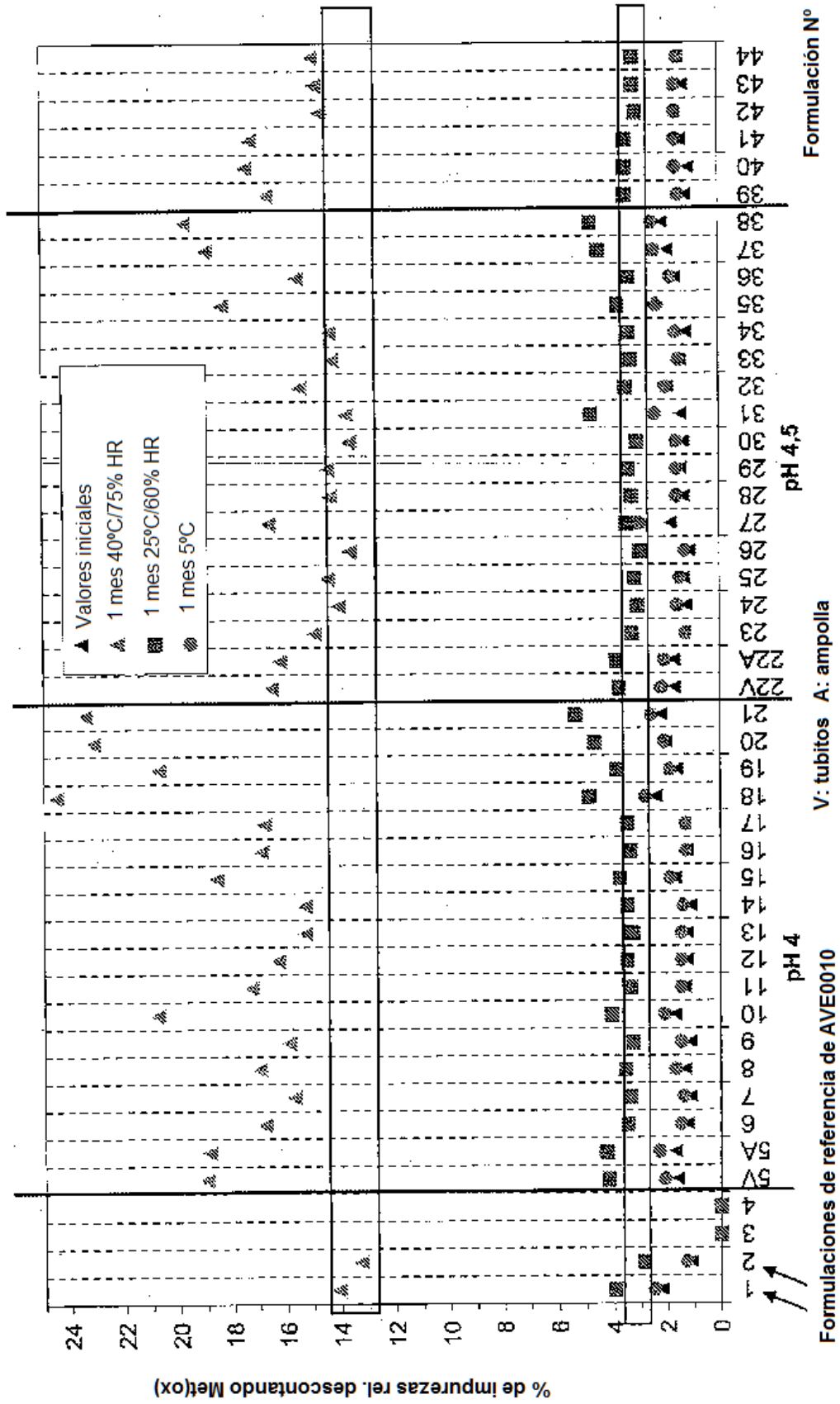
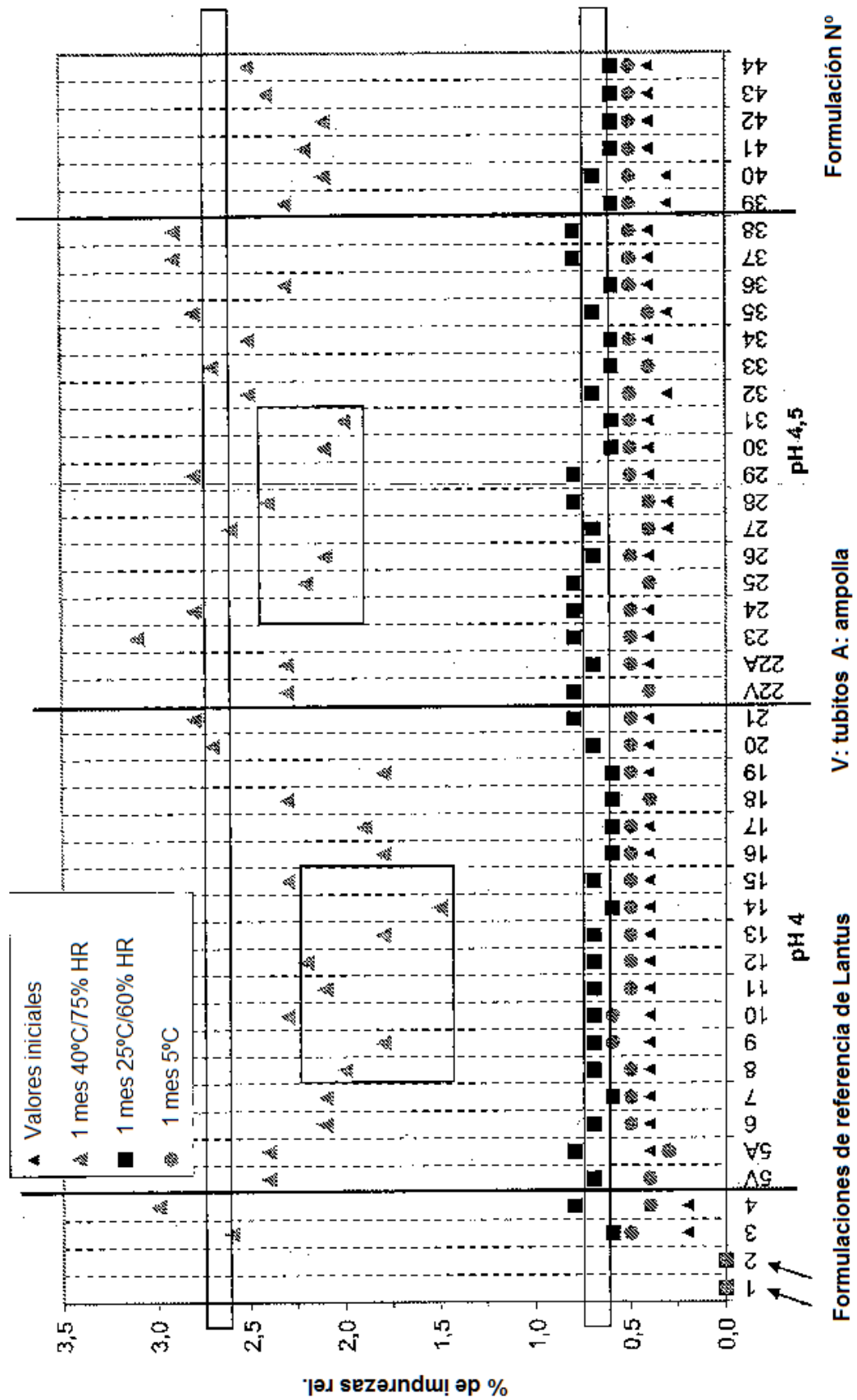


Figura 3 Impurezas de insulina glargina después de 1 mes de almacenamiento



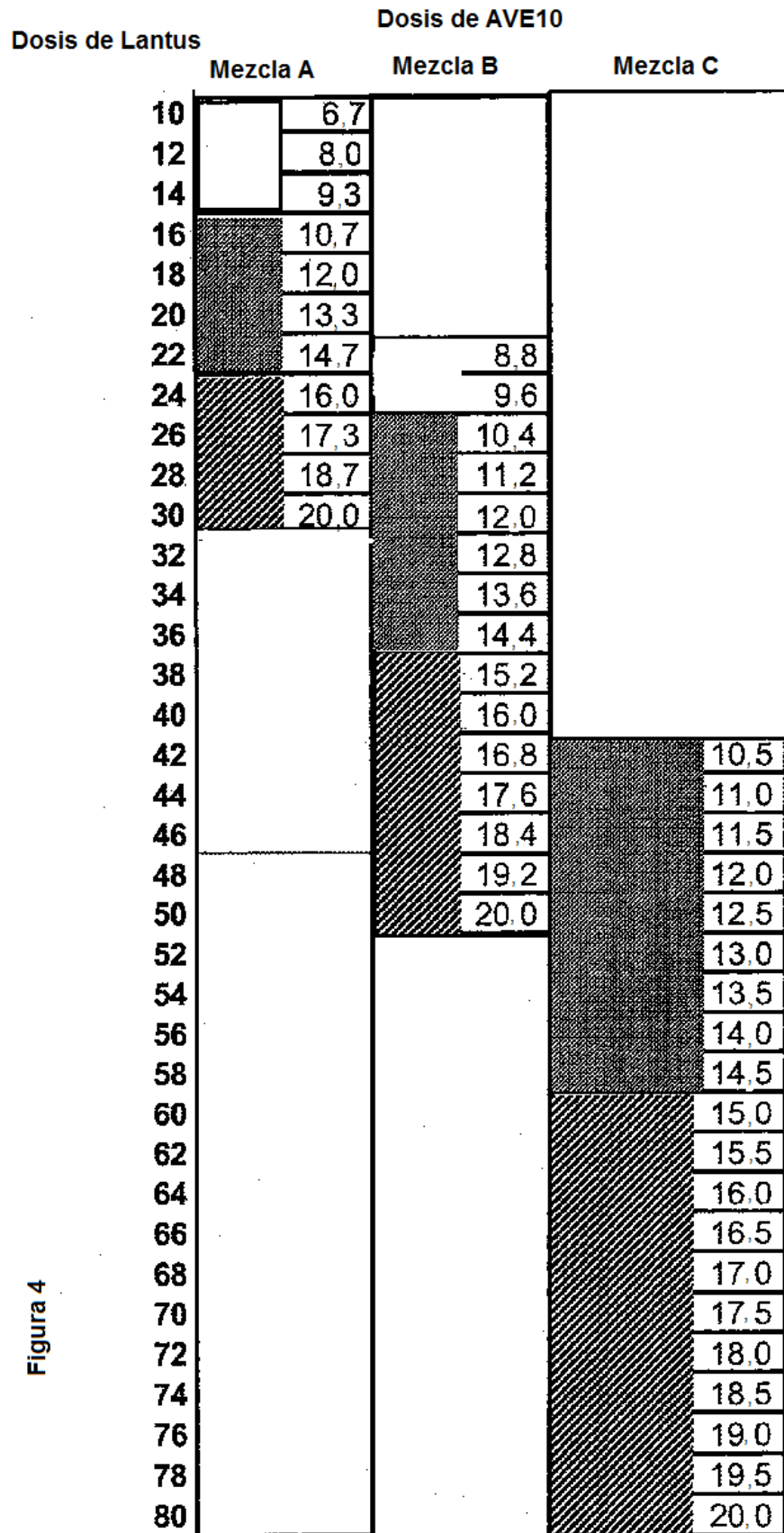


Figura 4